PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number:

11-132953

(43) Date of publication of application: 21.05.1999

(51)Int.CI.

G01N 21/64

(21)Application number: 09-297321

(71)Applicant : BUNSHI BIO PHOTONICS

KENKYUSHO:KK

(22)Date of filing:

29.10.1997

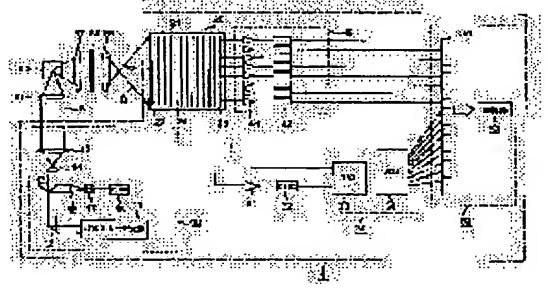
(72)Inventor: OSUGA SHINJI

(54) METHOD AND APPARATUS FOR MEASUREMENT OF FLUORESCENT LIFE

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method and an apparatus, for the measurement of a fluorescent life, in which the fluorescent life or the fluorescent attenuation curve of fluorescence can be measured with good efficiency.

SOLUTION: A sample 90 is irradiated with pulse excitation light A which is output from an excitation light source part 10. Fluorescence B which is generated from the sample 90 due to its irradiation is detected by a photodetector 20. The fluorescent-photon detecting time of every pulse of the pulse excitation light A from the time in which the sample 90 is irradiated with the pulse excitation light A until a first fluorescent photon is detected by the photodetector 20 is measured by a time measuring part 30. In addition, the number of fluorescent photons detected by the photodetector 20 is measured by a number-of- fluorescent-photons measuring part 40. A fluorescent life or a fluorescent attenuation curve is estimated by a fluorescent-photon detecting time and the page of the fluorescent detection detection time and the page of the fluorescent detection detection time and the page of the fluorescent detection time and the page of the page of



basis of the fluorescent-photon detecting time and the number of fluorescent photons which are measured in every pulse of the pulse excitation light A which is shone at the sample 90 repeatedly.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

13.07.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than dismissal

the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application] 22.04.2002

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision

of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (JP)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-132953

(43)公開日 平成11年 (1999) 5月21日

(51) Int. Cl. ⁶

識別記号

FI

G 0 1 N 21/64

В

G01N 21/64

審査請求 未請求 請求項の数2 OL (全 6 頁)

(21)出願番号

特願平9-297321

(71)出願人 595047385

株式会社分子バイオホトニクス研究所

静岡県浜北市平口5000番地

(22) 出願日 平成9年(1997)10月29日

(72)発明者 大須賀 慎二

静岡県浜北市平口5000番地 株式会社分子

バイオホトニクス研究所内

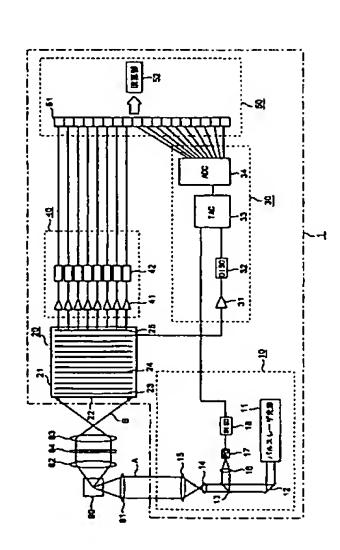
(74)代理人 弁理士 長谷川 芳樹 (外3名)

(54) 【発明の名称】 蛍光寿命測定方法および装置

(57)【要約】

【課題】 蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰曲線を効率良く測定することができる蛍光寿命測定方法および装置を提供する。

【解決手段】 励起光源部10から出力されたパルス励起光Aは試料90に照射され、その照射に伴い試料90から発生した蛍光Bは光検出器10により検出される。パルス励起光Aの各パルス毎に、パルス励起光Aが試料90に照射された時刻から最初の蛍光光子が光検出器20により検出された時刻までの蛍光光子検出時間が時間測定部30により測定され、また、光検出器20により検出された蛍光光子の個数が蛍光光子数測定部40により測定される。蛍光寿命または蛍光減衰曲線は、試料90に繰り返し照射されたパルス励起光Aの各パルス毎に測定された蛍光光子検出時間および蛍光光子の個数に基づいて、蛍光寿命推定部50により推定される。



FP04-0135 -00W0-HP '04.10.-5 STARCH REPORT 1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 パルス励起光が試料に照射されて発生した蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する蛍光寿命測定方法であって、

前記パルス励起光を前記試料に繰り返し照射して、前記パルス励起光の各パルス毎に、前記パルス励起光が前記 試料に照射された時刻から最初の蛍光光子が検出された 時刻までの蛍光光子検出時間を測定するとともに、検出 された蛍光光子の個数を測定し、

前記パルス励起光の各パルス毎に測定された前記蛍光光 子検出時間および前記蛍光光子の個数に基づいて前記蛍 光寿命または前記蛍光減衰曲線を推定する、

ことを特徴とする蛍光寿命測定方法。

【請求項2】 パルス励起光が試料に照射されて発生した蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する蛍光寿命測定装置であって、

前記パルス励起光を出力し前記試料に照射する励起光源部と、

前記蛍光を入力し前記蛍光の光量に応じた個数の光電子を放出する光電変換面と、前記光電変換面から放出された光電子を増倍して二次電子を発生させる電子増倍部と、前記二次電子の入力に応じて電流パルス信号をそれぞれ出力する2以上の所定数のアノード電極と、前記蛍光を透過させる入射窓を有し前記光電変換面、前記電子増倍部および前記所定数のアノード電極を内部に含む真空容器と、を有する光検出器と、

前記パルス励起光が前記試料に照射された時刻から最初の蛍光光子が前記光検出器により検出された時刻までの蛍光光子検出時間を前記パルス励起光の各パルス毎に測定する時間測定部と、

前記所定数のアノード電極のうち少なくとも1個の蛍光 光子に対応する電流パルス信号を出力したアノード電極 の個数に基づいて、前記光検出器により検出された蛍光 光子の個数を前記パルス励起光の各パルス毎に測定する 蛍光光子数測定部と、

前記試料に繰り返し照射された前記パルス励起光の各パルス毎に前記時間測定部により測定された蛍光光子検出時間および前記蛍光光子数測定部により測定された蛍光光子の個数に基づいて、前記蛍光寿命または前記蛍光減衰曲線を推定する蛍光寿命推定部と、

を備えることを特徴とする蛍光寿命測定装置。

【発明の詳細な説明】

[0001]

【発明の属する技術分野】本発明は、励起光が照射された た蛍光物質から発生する蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰 曲線を測定する蛍光寿命測定方法および装置に関するものである。

[0002]

【従来の技術】従来より、試料に含まれる蛍光物質から 発生する蛍光の蛍光寿命の測定方法として時間相関単一

光子計数法による方法が知られている。この時間相関単一光子計数法による測定では、パルス励起光の1パルス照射当たりに検出される蛍光の平均光子数が1より充分に小さい値(例えば、0.01)となるような強度の弱いパルス励起光を試料に照射し、パルス励起光が試料に照射された時刻から最初に蛍光光子を検出した時刻までの蛍光光子検出時間を測定する。そして、試料にパルス励起光を繰り返し照射して蛍光光子検出時間についてのヒストグラムを生成し、そのヒストグラムに基づいて蛍光の蛍光寿命を測定するものである。なお、蛍光光子の検出には光電子増倍管が通常用いられている。

[0003]

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、時間相 関単一光子計数法による測定では、その原理上、パルス 励起光の1パルス照射当たりに検出される蛍光光子の個 数を非常に小さくし、パルス励起光の照射パルス数に対 して蛍光光子検出頻度を数%以下にする必要があること から、その結果、蛍光寿命の測定精度は悪く、充分な精 度で蛍光寿命を求めるには長時間の測定を必要とすると 20 いう問題点がある。

【0004】本発明は、上記問題点を解消する為になされたものであり、蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰曲線を効率良く測定することができる蛍光寿命測定方法および装置を提供することを目的とする。

[0005]

【課題を解決するための手段】本発明に係る蛍光寿命測定方法は、パルス励起光が試料に照射されて発生した蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する蛍光寿命測定方法であって、(1)パルス励起光を試料に繰り返し照射して、パルス励起光の各パルス毎に、パルス励起光が試料に照射された時刻から最初の蛍光光子が検出された時刻までの蛍光光子検出時間を測定するとともに、検出された蛍光光子の個数を測定し、(2)パルス励起光の各パルス毎に測定された蛍光光子検出時間および蛍光光子の個数に基づいて蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する、ことを特徴とする。

【0006】また、本発明に係る蛍光寿命測定装置は、パルス励起光が試料に照射されて発生した蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する蛍光寿命測定装置であって、(1) パルス励起光を出力し試料に照射する励起光源部と、(2) 蛍光を入力し蛍光の光量に応じた個数の光電子を放出する光電変換面と、光電変換面から放出された光電子を増倍して二次電子を発生させる電子増倍部と、二次電子の入力に応じて電流パルス信号をそれぞれ出力する2以上の所定数のアノード電極と、蛍光を透過させる入射窓を有し光電変換面、電子増倍部および所定数のアノード電極を内部に含む真空容器と、を有する光検出器と、(3) パルス励起光が試料に照射された時刻から最初の蛍光光子が光検出器により検出された時刻から最初の蛍光光子が光検出器により検出された時刻までの蛍光光子検出時間をパルス励起光の各パルス毎に測定

する時間測定部と、(4) 所定数のアノード電極のうち少なくとも1個の蛍光光子に対応する電流パルス信号を出力したアノード電極の個数に基づいて、光検出器により検出された蛍光光子の個数をパルス励起光の各パルス毎に測定する蛍光光子数測定部と、(5) 試料に繰り返し照射されたパルス励起光の各パルス毎に時間測定部により測定された蛍光光子検出時間および蛍光光子数測定部により測定された蛍光光子の個数に基づいて、蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する蛍光寿命推定部と、を備えることを特徴とする。

【0007】この蛍光寿命測定装置によれば、励起光源部から出力されたパルス励起光は試料に照射され、その照射に伴い試料から発生した蛍光は光検出器により検出される。パルス励起光の各パルス毎に、パルス励起光が試料に照射された時刻から最初の蛍光光子が光検出器により検出された時刻までの蛍光光子検出時間は、時間測定部により測定され、また、光検出器により検出された蛍光光子の個数は、所定数のアノード電極のうち少なくとも1個の蛍光光子に対応する電流パルス信号を出力したアノード電極の個数に基づいて、蛍光光子数測定部により測定される。そして、蛍光寿命または蛍光減衰曲線は、試料に繰り返し照射されたパルス励起光の各パルス毎に測定された蛍光光子検出時間および蛍光光子の個数に基づいて、蛍光寿命推定部により推定される。

[8000]

【発明の実施の形態】以下、添付図面を参照して本発明の実施の形態を詳細に説明する。尚、図面の説明において同一の要素には同一の符号を付し、重複する説明を省略する。

【0009】図1は、本実施形態に係る蛍光寿命測定装置の構成図である。この蛍光寿命測定装置1は、パルス励起光Aを出力して試料90に照射する励起光源部10と、試料90から発生した蛍光Bを検出して電流パルス信号を出力する光検出器20と、パルス励起光Aが試料90に照射された時刻から最初の蛍光光子が光検出器20により検出される時刻までの蛍光光子検出時間をパルス励起光Aの各パルス毎に測定する時間測定部30と、光検出器20により検出された蛍光光子の個数をパルス励起光Aの各パルス毎に測定する蛍光光子の個数をパルス励起光Aの各パルス毎に測定する蛍光光子数測定部40と、時間測定部30により測定された蛍光光子検出時間および蛍光光子数測定部40により測定された蛍光光子検出時間および蛍光光子数測定部40により測定された蛍光光子の個数に基づいて蛍光の蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する蛍光寿命推定部50と、を備えて構成される。

【0010】励起光源部10は、パルスレーザ光源11、フォトダイオード17および波高弁別器18等を備えている。パルスレーザ光源11は、パルス励起光を繰り返し出力し、反射鏡12は、そのパルス励起光を反射し、半透鏡13は、反射鏡12により反射されたパルス励起光の一部を反射させ、残部を透過する。レンズ14

4

および15は、半透鏡13を透過したパルス励起光をコリメートして出力する。一方、レンズ16は、半透鏡13で反射されたパルス励起光を集光し、フォトダイオード17は、その集光されたパルス励起光を受光して、その光量に応じて電流信号を出力する。波高弁別器18は、その電流信号を入力し、パルス励起光が出力された時刻を示すタイミング信号を出力する。

【0011】この励起光源部10の半透鏡13を透過したパルス励起光Aは、レンズ81により集光され試料90に開射される。そして、これに伴い試料90に含まれる蛍光物質から発生した蛍光Bは、レンズ82により集光され、バンドパスフィルタ84を通過して励起光の散乱光等が除去された後、レンズ83を経て光検出器20の入射窓22の略全面に略一様に入射する。

【0012】光検出器20は、蛍光Bを透過させる入射窓22を有する真空容器21内に、入射した蛍光Bの光量に応じた個数の光電子を放出する光電変換面23と、その光電子を順次増倍して多数の二次電子を発生させる複数段(この図では11段)のダイノード24からなる電子増倍部と、その二次電子を入力して電流パルス信号を出力する複数個(ここでは8個)のアノード電極25と、を備えるものである。8個のアノード電極25と、を備えるものである。8個のアノード電極25は、光電変換面23と平行な面内にアレイ状に配置されている。なお、電子増倍部は、例えば、光電子増倍管におけるような多段の格子状ダイノードであってもよいし、マイクロチャンネルプレートであってもよい。

【0013】この光検出器20において、光電変換面2 3がアノード電極25に対して低電位とされ、また、各 ダイノード24それぞれにも所定の電圧が印加されてい 30 るときに、蛍光Bが光電変換面23に入射すると、その 光量に応じた個数の光電子が光電変換面23から放出される。この光電子は、各ダイノード24により増倍されて多数の二次電子が発生し、その二次電子は、8個のアノード電極25のうちの何れかのアノード電極に到達する。このとき、光電変換面23上における蛍光光子入射すなわち光電子放出の位置関係を保持したまま各ダイノード24で二次電子は増倍される。したがって、二次電子が到達して電流パルス信号を出力するアノード電極は、蛍光Bの光子が光電変換面23に入射した位置に対 40 応したものである。

【0014】時間測定部30は、増幅器31、波高弁別器32、時間振幅変換器33およびAD変換器34を備えている。増幅器31は、光検出器20の電子増倍部の最終段のダイノード24から出力されるパルス信号を入力し、このパルス信号を電圧パルス信号に変換し増幅して出力する。なお、ここで、ダイノード24から出力されるパルス信号を増幅器31が入力するのは、ダイノード24は8個のアノード電極25に対して共通であるからである。波高弁別器32は、増幅器31から出力された電圧パルス信号を入力し、その電圧パルス信号の波高

値が所定の閾値電圧より高い場合にタイミング信号を出 力する。すなわち、この波高弁別器32から出力される タイミング信号は、光検出器20により蛍光Bの光子が 検出されたタイミングを示すものである。時間振幅変換 器33は、波高弁別器18および波高弁別器32それぞ れから出力されたタイミング信号を入力し、これらの2つのタイミング信号に基づいて、パルス励起光Aが試料90に照射された時刻から最初の蛍光Bの光子が光検出器20により検出された時刻までの蛍光光子検出時間に応じた値の電圧信号を出力する。そして、AD変換器310 4は、時間振幅変換器33から出力された電圧信号を入力し、この電圧信号に応じたデジタル信号に変換して、そのデジタル信号を出力する。このAD変換器34から出力されたデジタル信号は、蛍光光子検出時間を表すものである。

【0015】蛍光光子数測定部40は、光検出器20の アノード電極25の個数と等しい組数の増幅器41およ び波高弁別器42を備えている。この図では、8組の増 幅器41および波髙弁別器42が設けられており、各組 それぞれは、8個のアノード電極25の何れかに対応し ている。増幅器41は、アノード電極25から出力され た電流パルス信号を入力して電圧パルス信号に変換し、 その電圧パルス信号を増幅して出力する。波高弁別器4 2は、増幅器41から出力された電圧パルス信号を入力 し、所定の閾値電圧よりも高い波高値を有する電圧パル ス信号を弁別し、論理パルス信号を出力する。すなわ ち、測定しようとする蛍光Bの蛍光光子少なくとも1個 に対応した波高値を有する電流パルス信号がアノード電 極25から出力された場合にのみ波高弁別器42は論理 パルス信号を出力するので、8個の波高弁別器42のう ち論理パルス信号を出力した波高弁別器42の個数は、 光検出器20により検出された蛍光Bの光子数に応じた ものである。

【0016】蛍光寿命推定部50は、時間測定部30のAD変換器34から出力されたデジタル信号と、蛍光光子数測定部40の各波高弁別器42それぞれから出力された論理パルス信号とを、インターフェース51を介して入力し、演算部52において、これらデジタル信号および論理パルス信号に基づいて蛍光Bの蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定する。

【0017】次に、この蛍光寿命測定装置1の作用とともに蛍光寿命測定部50の演算部52における処理内容について説明し、併せて、本発明に係る蛍光寿命測定方法の一実施形態について説明する。

【0018】励起光源部10内のパルスレーザ光源11から繰り返し出力されたパルス励起光Aは、反射鏡12、半透鏡13、レンズ14、レンズ15およびレンズ81を経て試料90に照射され、パルス励起光Aの照射に伴い試料90内の蛍光物質から発生した蛍光Bは、レンズ82、バンドパスフィルタ84およびレンズ83を

経て光検出器20の入射窓22の略全面に略一様に入射する。光検出器20では、蛍光Bが入射窓22を透過して光電変換面23に入射すると、光電変換面23から光電子が放出され、複数段のダイノード24からなる電子増倍部により二次電子が増倍され、その二次電子が複数のアノード電極25の何れかに入射し、二次電子が入射したアノード電極25から電流パルス信号が出力されるアノード電極25から電流パルス信号が出力されるアノード電極25から電流パルス信号が出力されるアノード電極25から電流パルス信号が出力されるアノード電極25から電流パルス信号が出力を見るパルス信号

る。アノード電極25から出力された電流パルス信号は、当該アノード電極25に対応する蛍光光子数測定部40内の増幅器41により電圧パルス信号に変換され、その電圧パルス信号は、対応する波高弁別器43に入力して、論理パルス信号が出力される。このとき、光検出器20内に設けられているアノード電極25の個数と比較して、パルス励起光Aの1パルス当たりにおける論理パルス信号を出力するアノード電極25の個数が充分に小さければ、論理パルス信号を出力したアノード電極25の個数は、光検出器20により検出された蛍光光子の

個数に等しいものと考えてよい。

【0019】一方、パルスレーザ光源11から出力され 20 たパルス励起光の一部は、半透鏡13により反射されレ ンズ16を経てフォトダイオード17により受光され、 パルス励起光Aが出力されたタイミングを示すタイミン グ信号が、波高弁別器18から出力される。また、光検 出器20の電子増倍部の最終段のダイノード24から出 力されたパルス信号に基づいて、光検出器20により蛍 光Bの光子が検出されたタイミングを示すタイミング信 号が増幅器31および波髙弁別器32により生成され る。そして、時間振幅変換器33により、波高弁別器1 8 および波高弁別器 3 2 それぞれから出力されたタイミ ング信号に基づいて、パルス励起光Aが試料90に照射 された時刻から最初の蛍光Bの光子が光検出器20によ り検出された時刻までの蛍光光子検出時間に応じた値の 電圧信号が出力され、AD変換器34により、時間振幅 変換器33から出力された電圧信号に応じたデジタル信 号が出力される。

【0020】パルスレーザ光源11から繰り返し出力されたパルス励起光Aの各パルス毎に、蛍光光子数測定部40の各波高弁別器42それぞれから出力された論理パルス信号、および、時間測定部30のAD変換器34から出力されたデジタル信号は、蛍光寿命推定部50のインターフェース51を介して演算部52に送信される。演算部52においては、蛍光光子数測定部40から入力された論理パルス信号に基づいて、光検出器20により検出された蛍光光子の個数が求められ、また、時間測定部30から入力されたデジタル信号に基づいて、パルス励起光Aが試料90に照射された時刻から最初の蛍光光子が光検出器20により検出された時刻までの蛍光光子が光検出器20により検出された時刻までの蛍光光子が光検出器20により検出された時刻までの蛍光光子が光検出器20により検出された時刻までの蛍光光子検出時間が求められる。演算部52には、パルス励起光 Aの多数(以下ではNとする)のパルスそれぞれについて、蛍光光子数n、および蛍光光子検出時間T、(i=1,

7

2,3,…,N) が互いに対として記憶される。

【0021】そして、演算部52では、N対の蛍光光子数n、および蛍光光子検出時間T、(i=1,2,3,…,N)に基づいて、蛍光Bの蛍光寿命または蛍光減衰曲線が以下のようにして推定される。なお以下では、試料90中の蛍光物質から発生する蛍光Bの蛍光減衰曲線が蛍光寿命の互いに異なる2つの指数関数の和で表される場合につ

$$p(t)dt = \frac{1}{2} \left\{ \lambda_1 \exp(-\lambda_1 t) + \lambda_2 \exp(-\lambda_2 t) \right\} dt$$

なる式で与えられるものとする。

【0023】演算部52では、N対の蛍光光子数n, および蛍光光子検出時間T, (i=1,2,3,…,N) に基づい

$$\log L = \sum_{i=1}^{N} \log \{P(T_i|n_i)\}$$

なる式で表される対数尤度が計算される。ここで、P (T | n)は、n個の蛍光光子が検出されたときに最初の 蛍光光子が時刻Tから時刻T+dTまでの時間に検出さ

$$P(T|n)dT = np(T)dT \left\{ \int_{T}^{\infty} p(t)dt \right\}^{n-1}$$

で与えられる。したがって、上記(2)式の対数尤度は、

$$\log L = \sum_{i=1}^{N} \left[\log n_i + \log \left\{ p(T_i) \right\} + (n_i - 1) \log \left\{ \int_{T_i}^{\infty} p(t) dt \right\} \right] \quad \cdots (4)$$

で表される。

【0024】そして、演算部52では、上記(4)式で表される対数尤度を最大化する \(\lambda\) および \(\lambda\) それぞれの値が推定され、蛍光寿命 \(\lambda\) および \(\lambda\) それぞれの値または蛍光減衰曲線が推定される。 \(\lambda\) おお、対数尤度の最大化による推定に際しては、準二ュートン法等の一般的な最適化アルゴリズムが好適に用いられる。

【0025】次に、蛍光寿命の推定に関するシミュレーション結果について説明する。以下では、 \(\lambda\) の値を 2.0 とし、 \(\lambda\) の値を 1.0 とし、パルス励起光の各パルス当たりに検出される蛍光光子の個数の平均値を 2.0 とした。また、Nの値を 10万とした。

【0026】図2は、従来の時間相関単一光子計数法による蛍光寿命推定のシミュレーション結果を示すグラフである。このグラフは、パルス励起光の各パルスが試料に照射された時刻から最初の蛍光光子が検出された時刻までの蛍光光子検出時間の頻度をヒストグラムとして表したものであり、グラフ中の□印は、シミュレーション結果の値を示し、グラフ中の曲線は、上記(1)式について最小二乗フィッティングを行った結果を示すものである。これによれば、入りの値として5.07が得られ、また、入りの値として1.72が得られ、何れの値も当初設定した値とは大きく異なっている。

いて説明する。

【0022】その2つの蛍光寿命をそれぞれ $1/\lambda$ 」および $1/\lambda$ 2とする。また、パルス励起光Aの各パルスが試料90に照射された時刻を基準(時刻t=0)として、時刻tから時刻t+dtまでの時間に光検出器20により蛍光Bの光子が検出される確率は、

8

【数1】

...(1)

て、 【数2】

...(2)

れる確率密度であり、

【数3】

...(3)

【数4】

【0027】図3は、本実施形態に係る蛍光寿命測定方法による蛍光寿命推定のシミュレーション結果を示すグラフである。このグラフは、縦軸、横軸をそれぞれ入りおよび入っとして、上記(4)式で表される対数尤度を等高線表示したものである。この図から判るように、(λ 1, λ 2) = (2.0, 1.0) の極近傍で対数尤度が最大となり、推定精度が優れていることが判る。

【0028】本発明は、上記実施形態に限定されるものではなく種々の変形が可能である。例えば、上記実施形態に係る蛍光寿命測定装置では、アノード電極25、増幅器41および波高弁別器42を8組設けたが、これに限定されるものではなく、16組または64組等であってもよい。

[0029]

【発明の効果】以上、詳細に説明したとおり、本発明によれば、パルス励起光を試料に繰り返し照射して、パルス励起光の各パルス毎に、パルス励起光が試料に照射された時刻から最初の蛍光光子が検出された時刻までの蛍光光子検出時間を測定するとともに、検出された蛍光光子の個数を測定し、パルス励起光の各パルス毎に測定された蛍光光子検出時間および蛍光光子の個数に基づいて蛍光寿命または蛍光減衰曲線を推定することとしたので、パルス励起光の1パルス当たりに検出される蛍光光

10

子の個数が多くても正確に蛍光寿命または蛍光減衰曲線 を推定することができる。また、従来の時間相関単一光 子計数法による測定の場合と比較して蛍光光子検出頻度 を1桁以上大きくすることができるので、蛍光寿命また は蛍光減衰曲線を短時間に効率よく測定することができ る。

【図面の簡単な説明】

【図1】本実施形態に係る蛍光寿命測定装置の構成図で ある。

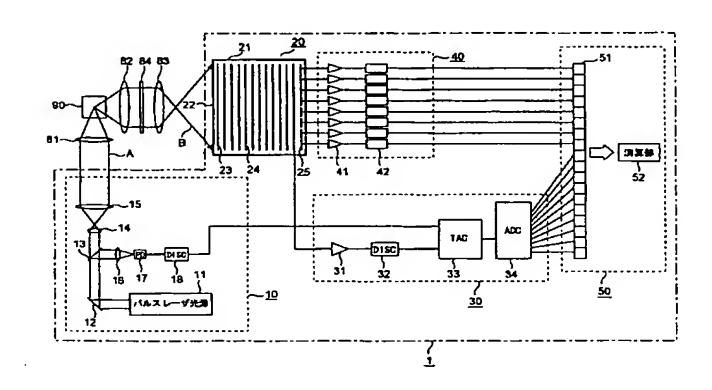
【図2】 従来の時間相関単一光子計数法による蛍光寿命 推定のシミュレーション結果を示すグラフである。

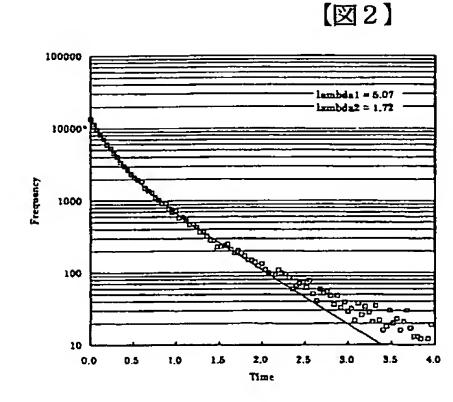
【図3】本実施形態に係る蛍光寿命測定方法による蛍光 寿命推定のシミュレーション結果を示すグラフである。

【符号の説明】

1…蛍光寿命測定装置、10…励起光源部、11…パル スレーザ光源、12…反射鏡、13…半透鏡、14,1 5, 16…レンズ、17…フォトダイオード、18…波 高弁別器、20…光検出器、21…真空容器、22…入 射窓、23…光電変換面、24…ダイノード、25…ア ノード電極、30…時間測定部、31…増幅器、3.2… 波高弁別器、33…時間振幅変換器、34…AD変換 器、40…蛍光光子数測定部、41…増幅器、42…波 10 高弁別器、50…蛍光寿命推定部、51…インターフェ ース、52…演算部、81,82,83…レンズ、84 …バンドパスフィルタ、90…試料、A…パルス励起 光、B…蛍光。

【図1】





【図3】

